

تغییرات قندهای محلول، نشاسته و پروتئین‌ها در اثر تنش خشکی در دو رقم نخود ایرانی (Cicer aritinum L.)

مه لقا قربانلی، مجید نوجوان: دانشگاه تربیت معلم

رضا حیدری، طیبه فرودنیا: دانشگاه ارومیه

(صفحه ۳۸-۵۳ و ۲۰ شماره ۱ جلد ۱)

چکیده

در این تحقیق تغییرات قندهای محلول، نشاسته و پروتئین‌ها در اثر تنش خشکی در دو رقم نخود ایرانی، مشهور به «جم» و «کاکا» بررسی شد. نتایج حاصل از بررسی تغییرات قندهای محلول، نشان داد که قندهای مزبور، در اندام هوایی و ریشه، در دو مرحله رویشی و زایشی افزایش پیدا کردند و اختلاف میانگین درصد قندهای محلول در اندام هوایی دو رقم نخود معنی‌دار بود و رقم کاکا نسبت به جم از قندهای محلول بیش‌تری برخوردار بود. برعکس میزان نشاسته در اثر تنش خشکی کاهش پیدا کرد. اختلاف میانگین مقدار نشاسته نیز در اندام هوایی معنی‌دار بود و رقم جم نسبت به کاکا از میزان نشاسته بیش‌تری برخوردار بود. اختلاف میانگین درصد نشاسته در ریشه و اندام هوایی در دو مرحله رشد رویشی نیز معنی‌دار بود. به علاوه این بررسی‌ها نشان دادند که رقم کاکا از جم نسبت به تنش آبی مقاوم‌تر است. و سرانجام بررسی الکتروفوروگرام‌های به دست آمده تغییرات باندهای پروتئینی را در اثر تنش خشکی نشان می‌داد که در ریشه و اندام هوایی دو رقم نخود کاملاً مشهود بود.

مقدمه

نخود از گیاهان تیره پروانه آسا است و یکی از محصولات زراعی بسیار مهم محسوب می‌شود. این گیاه در غرب ایران (آذربایجان، کردستان، کرمانشاهان) مناطق بسیار وسیعی را به صورت آبی و دیم زیر کشت دارد. نخود به عنوان گیاهی مقاوم برابر تغییرات رطوبت محیط شناخته شده است و در شرایط کمبود آب، تغییرات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی همراه با تغییرات بیوشیمیایی متفاوتی را پذیرا است.

در باب تأثیر تنش خشکی بر میزان تغییرات قندهای محلول و نشاسته، بررسی‌ها و تحقیقات گسترده‌ای روی گیاه نخود [۳]، گوجه فرنگی [۶]، لوبیای چشم بلبل [۱۰] ارقام مختلف گندم [۸] ژنوتیپ‌های مختلف گندم زمستانه [۱۲] و ذرت [۱۴] انجام گرفته است.

در پژوهش‌های اخیر که در زمینه واکنش مولکولی به تنش خشکی به عمل آمده، تغییرات پروتئین‌ها در شرایط خشکی [در اثر کمبود آب] نشان داده شده و این تغییرات به عنوان عاملی مؤثر در جهت کمک به تنظیم و تعادل اسمزی در گیاه، ارزیابی گردیده است [۲].

با توجه به درصد بالای پروتئین در نخود (۱۸-۲۵%) و نظر به اهمیت این محصول به عنوان یکی از حبوبات مهم در تغذیه انسان، ضرورت افزایش سطح زیر کشت و میزان تولید و بررسی تغییرات بیوشیمیایی آن در اثر تنش خشکی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. برای تحقق این اهداف، تغییرات قندهای محلول، نشاسته و همچنین تغییرات باندهای پروتئینی دو رقم نخود ایرانی مشهور به «جم» و «کاکا» در اثر تنش خشکی، مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. تا از این دیدگاه ارقام متحمل به خشکی جهت کشت دیم و صرفه جویی در میزان مصرف آب مشخص و معرفی گردد.

مواد و روش‌ها

بذر گیاهان از مؤسسه نهال و بذر استان آذربایجان غربی تهیه گردید. پس از جدا کردن بذرهایی یکنواخت و استریل کردن آن‌ها با هیپوکلریت سدیم ۳٪ به مدت ده دقیقه و خیساندن در آب مقطر استریل به مدت ۶ ساعت، در هر گلدان ۱/۵ لیتری محتوی خاک یک دانه بذر کشت گردید. گلدان‌ها در شرایط طبیعی، بیرون از گلخانه قرار گرفتند و مرتباً آبیاری شدند [۵]. بررسی در دو مرحله رویشی و زایشی انجام گرفت. در مرحله رویشی گیاهان ۲۰ روزه و در مرحله زایشی گیاهان پس از آغاز گلدهی (موقعی که گیاهان ۴۵ روزه بودند) مورد استفاده قرار گرفتند. مدت آزمایش برای هر دو گروه سه هفته و شرایط آزمایشی مشابه بود.

برای شروع آزمایش از بین ۵۰ گلدان کشت شده تعداد ۲۰ گلدان با گیاهان یکسان و مشابه از نظر شکل و اندازه و انشعابات فرعی انتخاب و با استفاده از طرح اعداد تصادفی (راندم) بین ۵ تیمار مختلف آبی، هر کدام با چهار تکرار تقسیم گردید. مقدار آب گیاهان براساس ظرفیت زراعی [۱] خاک مورد استفاده در گلدان‌های گیاهان بررسی شده تعیین شد [۴]. مقدار آب ظرفیت زراعی خاک مورد نظر ۲۵۰ میلی‌لیتر به دست آمد و گیاهان شاهد، هر سه روز یک بار، معادل ۲۵۰ میلی‌لیتر آب دریافت کردند ($\frac{5}{5} F.C = 250^{ml}$) گیاهان تیمارهای بعدی به ترتیب $\frac{0}{5} F.C$ ، $\frac{1}{5} F.C$ و $\frac{2}{5} F.C$ ، $\frac{3}{5} F.C$ ، یعنی معادل ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، میلی‌لیتر، آب دریافت کردند و این مقدار آب هم سه روز یک بار به هر کدام از تیمارهای مورد نظر داده شد. بعد از پایان آزمایش، اندام هوایی و ریشه از هم جدا گردید و به طور جداگانه توزین و به مدت ۲۴ ساعت در ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید. از این ماده خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان برای اندازه‌گیری قندهای محلول و نشاسته استفاده شد.

روش استخراج قندهای محلول نمونه‌های گیاهی

برای این منظور ۰/۱ گرم از ماده خشک اندام گیاهی (ریشه و اندام هوایی جدا از هم و سائیده و آماده شده) را با ترازوی دقیق (۰/۰۰۰۱ گرم) وزن کنیم و در لوله آزمایش می‌ریزیم و با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۰/۷۰،

به مدت یک هفته در یخچال قرار می‌دهیم. پس از یک هفته از محلول رویی، برای اندازه‌گیری قند محلول، استفاده می‌کنیم.

اندازه‌گیری قندهای محلول

به روش فنل سولفوریک (Kuchert 1978) که مبتنی است بر آب‌گیری قندهای محلول، تشکیل ترکیب فورفورال که با فنل تولید کمپلکس رنگی می‌کند، انجام گرفت و شدت رنگ کمپرس حاصل به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر زاید مدل DM4 در طول موج ۴۸۵ نانومتر تعیین گردید. به منظور تعیین و ارزیابی کمی قندهای محلول در نمونه‌ها، از منحنی استاندارد و با بکارگیری غلظت‌های معلوم گلوکز استفاده شد.

روش استخراج نشاسته

محلول اتانول حاوی قندهای محلول پیش‌گفته را صاف می‌کنیم و از رسوب باقی‌مانده بر روی کاغذ صافی، برای اندازه‌گیری مقدار نشاسته در نمونه‌های گیاهی استفاده می‌کنیم.

پس از خشک کردن رسوب وزن آن را تعیین می‌کنیم و آن را در لوله آزمایش می‌ریزیم و با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۱۵ دقیقه، در بن ماری آب جوش قرار می‌دهیم. سپس محلول را صاف می‌کنیم و از محلول صاف شده برای اندازه‌گیری نشاسته استفاده می‌کنیم روش کار همان است که در قندهای محلول انجام شد (روش فنل سولفوریک).

اندازه‌گیری مقدار نشاسته

اندازه‌گیری مقدار نشاسته نیز، مانند قندهای محلول، بر اساس روش فنل سولفوریک انجام گرفت.

روش استخراج عصاره پروتئین از بافت‌های گیاهی

برای استخراج از بافر تریس-بوریک 0.09 با PH=8.4 استفاده می‌شود.

Tris. 0.09 mol

Boric acid 0.08 mol

Na₂ EDTA 0.93 g/lit

صد میلی‌گرم از ماده تر برگ در یک ظرف محتوی یخ قرار می‌گیرد. به هر یک از نمونه‌های برگی $\frac{1}{4}$

میلی‌لیتر محلول ساکارز برای جلوگیری از دیفوزیون نمونه محافظ بافر (Fretz and kuhns 1978) افزوده می‌شود.

بافت تر گیاهی به خوبی در یک هاون چینی خرد می‌شود، برای آن که بافت کاملاً له شود ۳ میکرولیتر موکاپتواتانل امین و ۲ میلی‌گرم اسکوربیک اسید به آن اضافه می‌گردد اکنون یک ترکیب هموزن به دست می‌آید.

این ترکیب برای مدت ده دقیقه در (10000 g) سانتریفوژ شده محلول بالایی با پیپت pastor کشیده می‌شود (Leonard R.L and et. Al 1981).

بررسی تغییرات پروتئینی

برای بررسی تغییرات باندهای الکترو فورزی در نمونه‌های تحت تنش و مقایسه آن‌ها با باندهای الکترو فورزی گیاه شاهد از نمونه‌های ترو و باروش SDS-Page استفاده شد. در این روش ابتدا با استفاده از اوره 9M پیوندهای دی سولفید ساختمان چهارم پروتئینی قطع شده و سپس هر کدام از زنجیرها با به کارگیری β مرکاپتواتانل امین (Leonard R.L. and et.al 1981) به فرم خطی تبدیل می‌گردد. برای انتقال زنجیرهای پلی پپتیدی از دستگاه الکتروفورز مدل (ps-1002 اختریان) روی ژل پلی اکتریل امید استفاده شد.

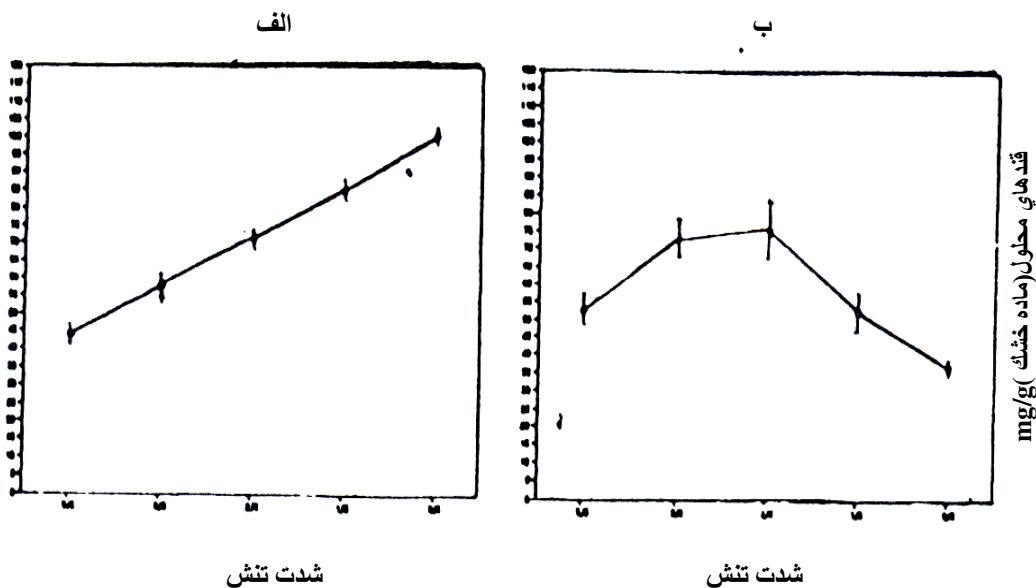
نتایج

تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشان داد که:

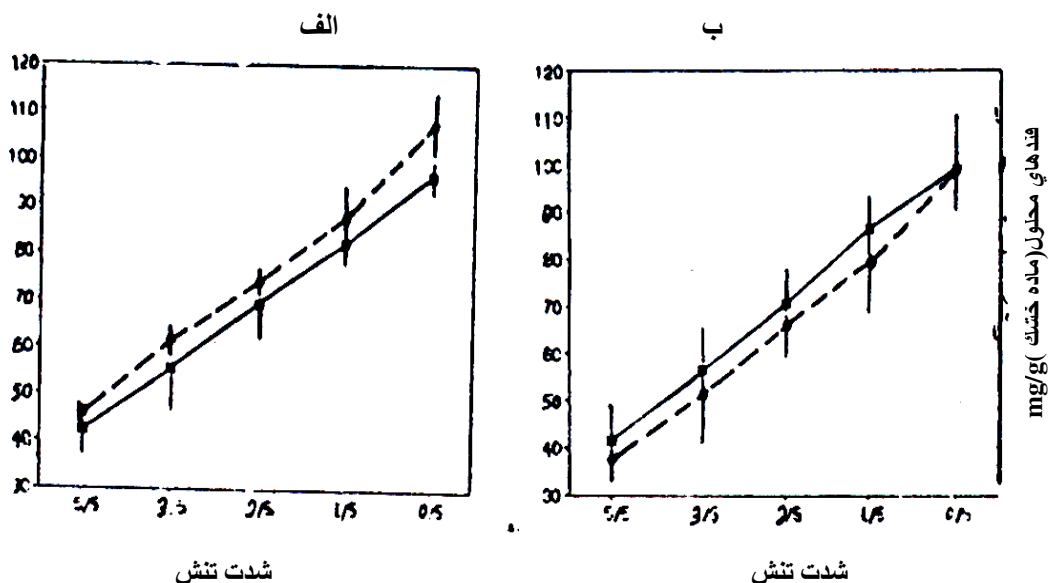
قندهای محلول در اثر تنش خشکی در اندام هوایی و ریشه هر دو رقم نخود متناسب با شدت تنش افزایش یافته است (شکل ۱ و جدول ۱).

اختلاف میانگین درصد قندهای محلول در اندام هوایی و ریشه دو رقم معنی‌دار بود و رقم کاکا نسبت به رقم جم از مقدار قند بیش‌تری برخوردار بود (هیستوگرام ۱).

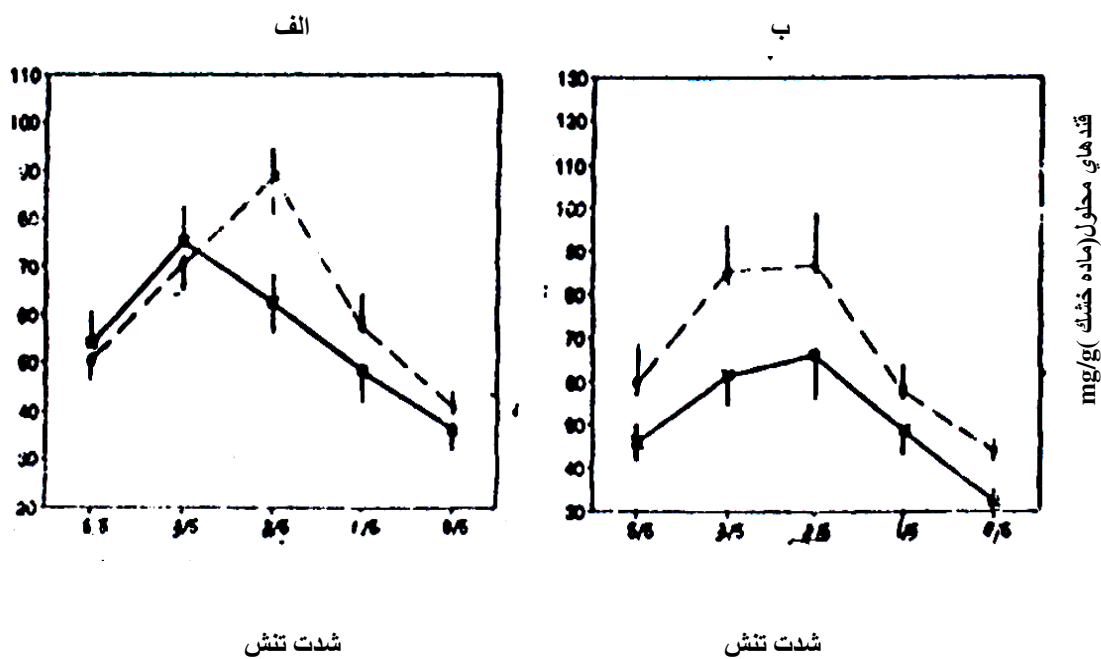
مقایسه شیب تغییرات قندهای محلول در اندام هوایی و ریشه دو رقم و دو مرحله رشد با همدیگر در شکل‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است.



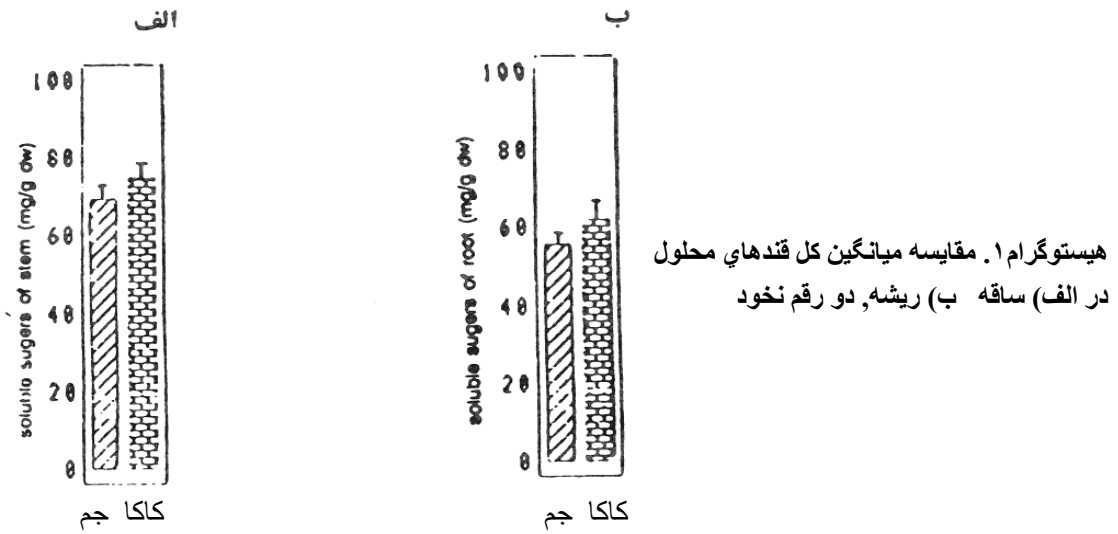
شکل ۱. اثر تنش آبی بر تغییرات قندهای محلول در: الف) ساقه ب) ریشه، نخود



شکل ۲. مقایسه اثر تنش آبی بر تغییرات قندهای محلول
الف) در ساقه دو رقم کاکا و (---) جم و ب) در ریشه نخود



شکل ۳. مقایسه اثر تنش آبی بر تغییرات قندهای محلول
الف) در ریشه دو رقم کاکا و (---) جم و ب) در مرحله رشد زایشی و (---) رویشی
بارهای عمودی نشانگر (انحراف استاندارد ± میانگین) (Mean ± SE)



جدول ۱. اثر تنش آبی بر تغییرات قندهای محلول الف) ساقه (ب) ریشه دو رقم نخود (ماده خشک mg/g)

تجهیز	قندهای محلول ساقه		شدت تنش
	مرحله رویشی	مرحله زایشی	
	میانگین ± SE	میانگین ± SE	
الف)	۹۶/۱۳۰ ± ۰/۴۴۹	۹۶/۷۲۰ ± ۱/۱۲۲۴	ظرفیت زراعی ۰/۵
	۸۰/۰۷۰ ± ۰/۴۴۸۲	۸۴/۸۸۵ ± ۱/۳۲	ظرفیت زراعی ۱/۵
	۶۷/۴۶۵ ± ۱/۷۷۰۲	۷۱/۰۷۰ ± ۱/۴۰۰۶	ظرفیت زراعی ۲/۵
	۵۳/۷۲۰ ± ۲/۴۶۲۶	۵۷/۱۶۵ ± ۱/۱۶۱۸	ظرفیت زراعی ۳/۵
	۳۹/۷۳۰ ± ۰/۶۶۴۲	۴۵/۱۹۰ ± ۱/۳۰۸۲	ظرفیت زراعی ۴/۵
کاکا جم)	۱۰۲/۴۸ ± ۱/۲۲۶۴	۱۰۸/۵۶۰ ± ۱/۹۱۱	ظرفیت زراعی ۰/۵
	۹۲/۹۰۰ ± ۰/۵۱۶۶	۸۲/۵۰۰ ± ۲/۶۸۶۴	ظرفیت زراعی ۱/۵
	۷۳/۸۶۰ ± ۱/۰۷۴	۷۳/۵۴۵ ± ۱/۱۱۳۶	ظرفیت زراعی ۲/۵
	۵۹/۳۷۰ ± ۰/۷۵۵۴	۶۲/۱۹۵ ± ۲/۷۱۷۲	ظرفیت زراعی ۳/۵
	۴۳/۴۲۵ ± ۲/۲۴۷	۴۸/۳۴۵ ± ۰/۵۳۵	ظرفیت زراعی ۴/۵

قندهای محلول ریشه

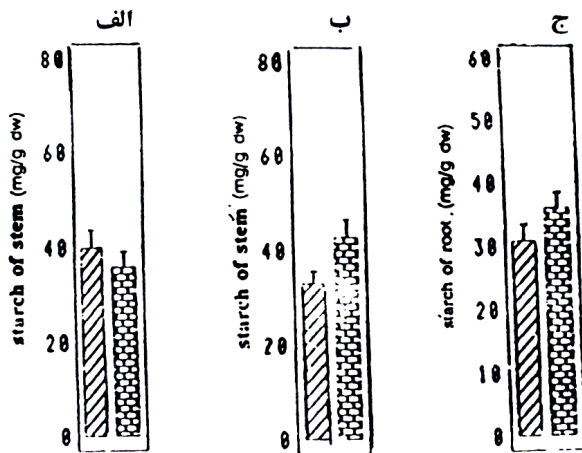
ب

رقم تنش	سطوح تنش	مرحله رویشی	مرحله زایشی
		میانگین ± SE	میانگین ± SE
الف	ظرفیت زراعی ۰/۵	۲۹/۲۰۴۰۰ ± ۱/۷۴۳۱۷	۴۳/۶۷۶۰۰ ± ۲/۲۴۸۴
	ظرفیت زراعی ۱/۵	۳۲/۶۶۴۰۰ ± ۲/۳۵۶۸۸	۶۴/۶۹۶۰۰ ± ۲/۰۶۶۱۴
	ظرفیت زراعی ۲/۵	۴۹/۹۴۴۰۰ ± ۲/۵۱۵۰۲	۷۵/۲۴۸۰۰ ± ۲/۰۸۴۳۷
	ظرفیت زراعی ۳/۵	۶۳/۹۴۴۰۰ ± ۳/۴۴۰۹۷	۸۶/۹۸۸۰۰ ± ۲/۹۰۹۵۸
	ظرفیت زراعی ۵/۵	۴۵/۴۹۲۰۰ ± ۳/۴۲۷۵۵	۶۲/۸۲۰۰۰ ± ۴/۱۸۹۹۱
کاکا	ظرفیت زراعی ۰/۵	۳۶/۷۷۶۰۰ ± ۱/۹۴۴۶۱	۴۲/۲۸۰۰۰ ± ۲/۰۲۷۳۲
	ظرفیت زراعی ۱/۵	۶۵/۰۷۲۰۰ ± ۶/۷۳۰۷۴	۴۹/۰۱۲۰۰ ± ۳/۵۷۱۰۵
	ظرفیت زراعی ۲/۵	۸۱/۹۴۰۰۰ ± ۸/۳۵۶۳۹	۹۸/۰۳۶۰۰ ± ۹/۸۵۳۵۸
	ظرفیت زراعی ۳/۵	۵۲/۲۸۴۰۰ ± ۶/۲۸۴۰۲	۸۳/۴۳۶۰۰ ± ۸/۴۷۷۱۸
	ظرفیت زراعی ۵/۵	۴۶/۲۸۰۰۰ ± ۴/۰۸۳۱۲	۵۷/۰۷۵۹۹ ± ۳/۱۳۸۶۹

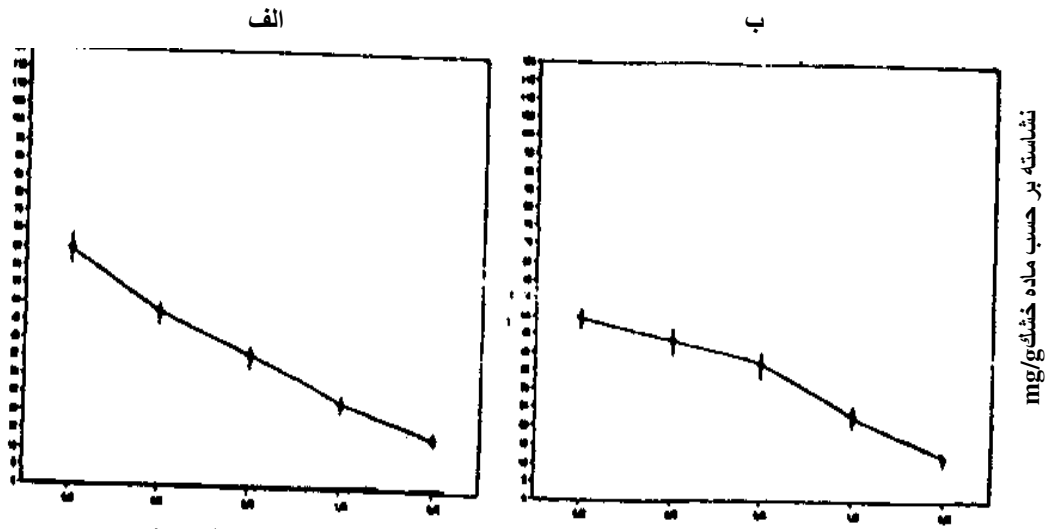
نشاسته

تنش خشکی باعث کاهش میزان نشاسته در اندام هوایی و ریشه نخود شد شکل ۴ و جدول ۲. اختلاف میانگین درصد نشاسته اندام هوایی دو رقم معنی‌دار بود و رقم رجم نسبت به کاکا نشاسته بیش‌تری داشت (هیستوگرام ۲ الف).

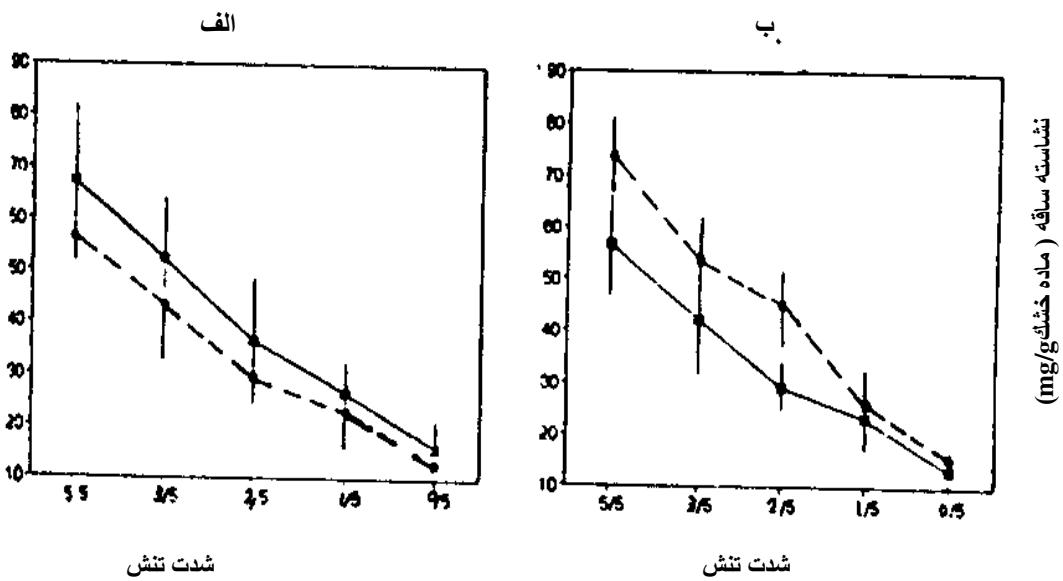
اختلاف میانگین نشاسته در ریشه و اندام هوایی در مرحله زایشی به وجه بسیار متمایزی بیش‌تر از مرحله رویشی بود (هیستوگرام ۲، ب و ج). مقایسه شیب تغییرات نشاسته دو رقم نخود و در دو مرحله رشد در شکل‌های (۵ و ۶) نشان داده شده است.



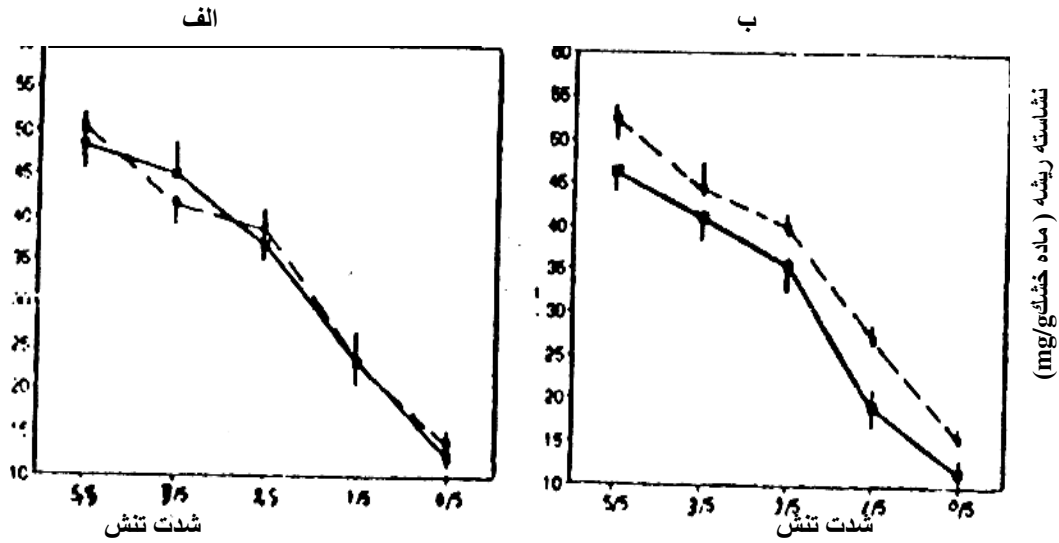
هیستوگرام ۲. مقایسه میانگین کل نشاسته در اندام هوایی الف) دو رقم نخود جم و کاکا ب) در اندام هوایی ج) در ریشه نخود در دو مرحله رشد: ۱- رویشی ۲- زایشی (بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد ± میانگین (Mean ± SE))



شکل ۴. اثر تنش آبی بر تغییرات نشاسته (الف) در ساقه (ب) در ریشه نخود



شکل ۵. مقایسه اثر تنش آبی بر تغییرات نشاسته در ساقه (الف) دو رقم کاکا «----» و جم «■■■■■» (ب) دو مرحله رشد زایشی «----» و رویشی «■■■■■»



شکل ۶. مقایسه اثر تنش آبی بر تغییرات نشاسته در ریشه الف) دو رقم کاکا «----» و جم «■■■■» و ب) دو مرحله رشد زایشی «----» و رویشی «■■■■»

جدول ۲. اثر تنش آبی بر تغییرات نشاسته در الف) ساقه ب) ریشه، دو رقم نخود (ماده خشک mg/g)

شدت تنش	نشاسته ساقه	
	مرحله رویشی میانگین ± SE	مرحله زایشی میانگین ± SE
0	۱۶/۱۷۰۸۳ ± ۰/۴۷۷۷۶	۱۵/۵۹۳۷۵ ± ۱/۴۸۲۵۹
۱	۲۵/۰۴۱۶۷ ± ۱/۵۵۵۱۲	۲۷/۹۳۱۲۵ ± ۸/۰۱۵۶۹
۲	۴۶/۴۹۵۸۳ ± ۱/۶۸۴۸۱	۲۶/۶۵۰۰۰ ± ۰/۳۲۹۳۵
۳	۵۷/۶۹۳۷۵ ± ۱/۳۹۷۸۴	۴۶/۸۵۶۲۵ ± ۲/۶۷۲۶۲
۴	۷۵/۲۶۶۶۷ ± ۲/۲۳۸۵۶	۵۹/۳۱۸۷۵ ± ۲/۵۷۴۲۸
0	۱۴/۹۹۱۶۷ ± ۰/۷۱۲۸۴	۱۰/۸۴۴۷۵ ± ۰/۳۳۴۷۸
۱	۲۳/۸۷۹۱۷ ± ۱/۲۱۵۷۸	۱۸/۴۹۳۷۵ ± ۰/۸۷۹۶۸
۲	۴۲/۸۰۶۲۵ ± ۱/۰۶۸۰۲	۳۱/۸۸۷۵۰ ± ۰/۹۷۹۵۶
۳	۵۰/۲۱۲۵ ± ۰/۸۵۳۴۹	۳۷/۸۰۰۰۰ ± ۱/۰۸۳۲۴
۴	۷۲/۹۴۱۶۷ ± ۰/۸۶۹۴۴	۵۳/۸۳۳۳۳ ± ۰/۶۰۷۵۸

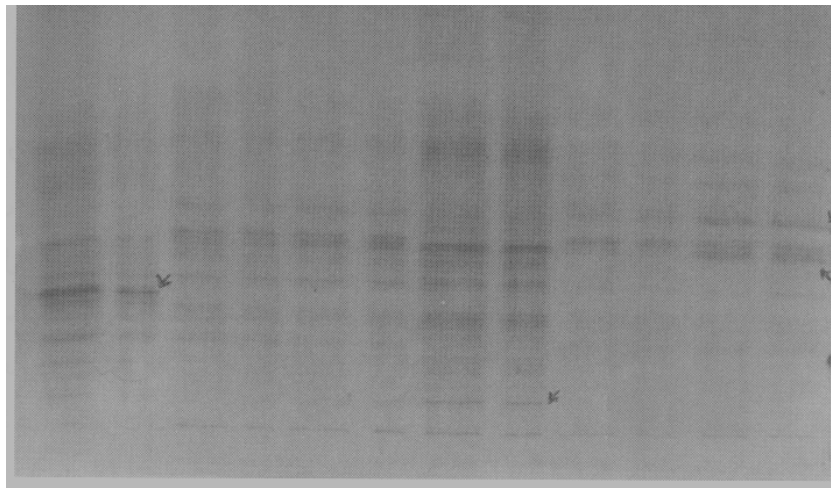
نتیجه الکتروفورز پروتئین‌ها را در شکل ۷ که تغییرات باندهای پروتئینی نمونه‌های تحت تیماری مختلف در مقایسه با شاهد در آن علامت‌گذاری گردیده است، می‌توان مشاهده کرد.

نشاسته ریشه

ب

مرحله زایشی ± SE میانگین	مرحله رویشی ± SE میانگین	سطوح تنش	کاکا
۱۳/۱۸۹۵۸ ± ۰/۴۰۵۴۵	۱۲/۱۸۱۲۵ ± ۰/۴۶۲۵۶	۰/۵	کاکا
۲۷/۶۵۲۰۸ ± ۰/۶۷۵۹۸	۱۸/۸۹۳۷۵ ± ۱/۳۴۸۵۴	۱/۵	
۴۱/۰۶۲۵۰ ± ۱/۲۹۰۶۶	۳۲/۷۵۴۱۷ ± ۱/۱۴۹۰۸	۲/۵	
۴۸/۷۱۲۵ ± ۲/۴۰۰۶۱	۴۱/۲۶۸۷۵ ± ۰/۴۶۷۱۴	۳/۵	
۵۳/۰۷۹۱۶ ± ۰/۴۳۱۱۵	۴۳/۴۳۱۲۵ ± ۰/۴۱۵۴۲	۴/۵	
۱۶/۶۹۳۷۵ ± ۰/۱۹۲۴۷	۱۰/۷۶۸۷۵ ± ۰/۳۱۳۵۵	۰/۵	کاکا
۲۶/۶۰۰۰۰ ± ۰/۷۰۳۴۶	۱۹/۵۱۴۵۸ ± ۰/۶۸۵۶۱	۱/۵	
۳۸/۸۳۱۲۵ ± ۰/۴۴۷۴	۳۸/۳۹۵۸۳ ± ۱/۸۴۳۰۶	۲/۵	
۴۱/۱۵۶۲۵ ± ۰/۴۶۹۲۴	۴۱/۲۸۵۴۲ ± ۱/۸۳۴۹۸	۳/۵	
۵۲/۰۳۷۵۰ ± ۰/۳۷۰۵۵	۴۹/۰۱۲۵۰ ± ۱/۰۷۵۷۸	۴/۵	

۱۲ ۱۱ ۱۰ ۹ ۸ ۷ ۶ ۵ ۴ ۳ ۲ ۱



شکل ۷. تغییر باندهای پروتئینی در دو رقم نخود (جم و کاکا) تحت تنش خشکی

ترتیب باندهای پروتئینی انواع نمونه‌های گیاهی تحت تیمارهای مختلف آبی در شکل ۷

شماره ستونها	نام رقم	شدت تنش
۲ و ۱	جم	۰/۵ ظرفیت زراعی (تنش شدید)
۴ و ۳	جم	۲/۵ ظرفیت زراعی (تنش ملایم)
۶ و ۵	جم	۵/۵ ظرفیت زراعی (شاهد)
۸ و ۷	کاکا	۰/۵ ظرفیت زراعی (تنش شدید)
۱۰ و ۹	کاکا	۲/۵ ظرفیت زراعی (تنش ملایم)
۱۲ و ۱۱	کاکا	۵/۵ ظرفیت زراعی (شاهد)

بحث و تفسیر

بررسی نتایج حاصل از آنالیز واریانس مربوط به تغییرات قندهای محلول نشان داد که مقدار قندهای محلول ریشه و اندام هوایی گیاه نخود در اثر تنش خشکی افزایش یافته است. این نتیجه با نتایج بررسی‌های انجام گرفته بر روی گیاه نخود [۳]، گوجه فرنگی [۶]، لوبیایی چشم بلبلی [۱۰]، ارقام مختلف گندم [۸]، ژنوتیپ‌های مختلف گندم زمستانه [۱۲] و ذرت [۱۴] تایید می‌شود. این افزایش را یکی از عوامل مؤثر در جهت تنظیم اسمزی گیاه و یکی از مکانیسم‌های مقاومت در برابر خشکی شناخته‌اند [۳]، [۸]، [۱۲]، [۱۴]. البته در بررسی‌های دقیق‌تر، تغییرات انواع قندهای محلول نیز مورد توجه قرار گرفته و مشخص شده است که هر یک از آن‌ها، مانند گلوکز و فروکتوز، در گیاهان مختلف تغییرات گوناگونی پیدا کرده و سهم آن‌ها در تنظیم اسمزی گیاهان مختلف متفاوت است [۸]، [۱۲]، [۱۴].

افزایش قندهای محلول در اثر تنش خشکی را ناشی از هیدرولیز نشاسته می‌دانند و معمولاً افزایش قندهای محلول با کاهش نشاسته و در بعضی موارد کاهش ساکارز همراه است و همزمان با افزایش قندهای محلول فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده مانند آلفا-آمیلاز و انورتاز که به ترتیب نشاسته و ساکارز را تجزیه می‌کنند، نیز افزایش نشان می‌دهد [۸]، [۱۰]. افزایش قندهای محلول خود یکی از دلایل افزایش فشار اسمزی داخلی گیاه است که سعی دارد در شرایط کم آبی فشار اسمزی محیطی را خنثی و حتی الامکان آب موجود در خاک را جذب کند.

در ریشه نیز قندهای محلول در اثر تنش خشکی افزایش می‌یابد ولی این افزایش متناسب با شدت تنش نیست، چنان‌که در تنش شدید میزان قندهای محلول کاهش داشته‌اند و این تغییر احتمال دارد بر اثر کاهش فعالیت ریشه و تقلیل متابولیسم کربوهیدرات‌ها در اثر تنش شدید و در نتیجه کاهش نقل و انتقال قندها در آوندهای آبکشی باشد [۱۷]. اختلاف میانگین تغییرات قندهای محلول دو رقم در اندام هوایی معنی‌دار بوده است و مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که رقم کاکا نسبت به رقم جم قندهای محلول بیش‌تری دارد. از آنجا که رقم کاکا بنا به بسیاری از شاخص‌های برآورده شده مانند میزان ماده‌سازي و سرعت رشد نسبی و محتوای نسبی آب (منتشر نشده) مقاومتر از رقم جم است بنا بر این می‌توان گفت تجمع بیش‌تر قندهای محلول، یکی از عوامل مؤثر در تنظیم و تطبیق اسمزی بهتر این گیاه و در نتیجه افزایش مقاومت آن در برابر تنش بوده است.

پژوهش‌هایی که قبلاً در این مورد بر روی گیاهان مختلف انجام گرفته نشان داده است که انواع مقاومتر نسبت به انواع حساس از افزایش قندهای محلول بیش‌تری برخوردار بوده‌اند [۸]، [۱۰].

نتایج بررسی تغییرات نشاسته نشان می‌دهد که برعکس فندهای محلول، نشاسته اندام‌های هوایی و ریشه گیاه خود در اثر تنش خشکی کاهش می‌یابد و این نتیجه با نتایج پژوهش‌های انجام شده در این مورد نیز مطابقت

دارد [۱۰]. علت این امر را هیدرولیز آنزیمی نشاسته در شرایط تنش می‌دانند؛ زیرا هم‌زمان با کاهش نشاسته، افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده (a-آمیلاز) نیز دیده می‌شود [۱۰]. همچنین اختلاف میانگین هر دو رقم در مرحله رشد معنی‌دار بود و به طور کلی رقم جم نسبت به کاکا و مرحله زایشی نسبت به مرحله رویشی از مقدار نشاسته بیش‌تری برخوردار بوده‌اند.

در مورد تغییرات پروتئین‌ها در اثر تنش خشکی نیز پژوهش‌های زیادی به عمل آمده و کاهش پروتئین‌های محلول در اثر تنش خشکی نشان داده است که علت آن را، کاهش سنتز پروتئین‌ها در شرایط خشکی [۱]، [۴]، [۱۶] و یا تجزیه پروتئین‌ها به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز [۲]، [۷]، [۱۶] می‌دانند.

پژوهش‌های انجام گرفته بر روی گیاهان گندم و ذرت نشان داده است که این کاهش بر اثر کم شدن همه پروتئین‌های محلول، در تمام گیاهان نیست بلکه بعضی از پروتئین‌ها که بر حسب نوع گیاه متفاوتند، تغییر می‌کنند و به عبارت دیگر تجزیه انتخابی پروتئین‌ها صورت می‌گیرد [۱۱]. چنان‌که بررسی‌های انجام گرفته بر روی گیاه اسفناج نشان داده که سنتز پروتئینی ۸۵ کیلو دالتونی [۱۴] و همچنین در کشت‌های سلولی توتون، پروتئین ۲۶ کیلو دالتونی در شرایط تنش خشکی تحریک شده و مقدار آن‌ها نیز افزایش می‌یابد [۱۳]. در بررسی اثر تنش خشکی بر روی گیاه خود نیز نتایج مشابهی به دست آمده است [۷].

در پژوهش‌های اخیر در زمینه واکنش مولکولی به کمبود آب، تعدادی از محصولات ژن‌های تحریک شده بر اثر کمبود آب با توجه به ویژگی‌های اسیدهای آمینه تشکیل دهنده آن‌ها شناخته شده و چنین استنباط می‌شود که تغییرات حاصل، ساختمان‌های سلولی را از اثرات کاهش آب حفاظت می‌کند. این ژن‌ها را ژن‌های LEA (اولین بار در دانه‌های در حال رشد دیده شده) نامیده‌اند و تشخیص داده شده است که این ژن‌ها در بافت‌های رویشی در شرایط کاهش آب ناشی از تنش خشکی، شوری و دماهای پائین نیز دیده می‌شوند. پروتئین‌های مربوطه را پروتئین‌های لی نام‌گذاری کرده‌اند. اسیدهای آمینه به کار رفته در ساختمان این پروتئین‌ها به شدت آب‌دوست بوده و باعث نگهداری آب در شرایط کمبود آب و همچنین باعث تجمع و نگهداری یون‌ها در اثر تنش خشکی می‌شود. این فرایند موجب حفظ پروتئین‌های ساختمان‌های غشایی و بازگرداندن حالت طبیعی پروتئین‌های باز شده می‌شوند و در واقع تغییرات پروتئین‌های گیاهی چنان‌که در این آزمایش نیز نشان داده شده، در جهت افزایش قدرت مقاومت گیاه در برابر کم‌آبی است [۲].

سپاس‌گذاری

بدین‌وسیله از زحمات و همکاری آقای صیفي کارشناس آمار و آقای رشید جامع کارشناس آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه، صمیمانه سپاسگذاری می‌شود.

منابع

1. Antolin M.C and Sonchez Diaz M. Effects of Temporary droughts on photosynthesis of Alfa alfa plants. J. of experimental Botany Vol.44. No. 265 (1993) 1341-1349.
2. Bray A. Elizabeth. Molecular responses to water deficit. Plant Physiology. 103 (1993) 1035-1040.
3. Clive W. Ford. Accumulation of low molecular weight solutes in water stressed tropical legumes. Phytochemistry, Vol. 23, No.5 (1984) 1007-1015.
4. Covell S. Ellis, R.H., Robert E. & Summerfield. The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. J. of experimental Botany, Vol. 37, No. 183 (1985) 1503-1515.
5. Elnadi A.H. Water relations of beans, effects of water stress on growth and flowering (Vicia, faba). Expl. Agric (5) (1969) 195-207.
6. Handa, Sangita~ Ray, Bressan, Aurtor. K. Handa & Nicolas C. Carpita & paul M.Hasegawa. Solute Contributing to osmotic, adjust-ment in Cultured plant cell adapted to water stress. Plant Physiol. 73(3) (1983) 834-843.
7. Josef Francisco monoz, Emillia labrador & Berta Dopico. Effect of water (osmotic) stress on the growth of epicotyles of Cicer arietinum in relation to changes in the autolytic process and glycan hydrolytic cell wall enzymes. Physiologia plantarum. 87 4 (1993) 544-551.
8. Kameli, A & D.M. losel. Carbohydrates and water stress in wheat plants under water stress. New phytologist 125(3) (1993) fi09-614.
9. Kaur, Amargit, LS. Sheoran and I-andhir Singh. Effect of water stress on the enzymes of Nitrogen metabolism in Mung heen (Vinga radiata) nodules. Plant cell environ 8(3) (1985) 195-200.
10. Keller F. and Ludlow. Carbohydrate metabolism in drought-stressed leaves of pigeonpea (Cajanus Cajan) J. of Experimental Botany Vol. 44. No. 265 (1993) 1351-1359.

11. Luna, Marcella, Mourisia, Badiani, Marcella. Fijici France Actimi and G.Gio, vannonzzi semanii. Selective enzyme activation under water stress in Maize (*Zea mays*) and wheat (*friticum aestivum*) seedlings. *Environ expo Biol.*21(2) Vol. 21. No.2 (1985) 153-156.
12. Martin M.F. Micili, J.A Morgan M.Scalet G. Zerbi. Synthesis of osmotically active substances in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. *J. of Agronomy and crop science*, 171(3) (1993) 176-184.
13. Narendra, Ksingh, Bressan. Protein associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl & water stress. *Plant physiology* 79 (1985) 126-137.
14. Neven, Lisa, O. Dale, W.Haskell. Characterization of a spinach gene responsive to low temperature and water stress. *plant Mol. BioI.* 21(2) (1993) 261-305.
15. Rajendr S., Dehindra. Glutation status and Protein synthesis during drought and subsequent rehydration in *Tortula ruralis*. *Plant phyalol.* 83 (1987) 816-819.
16. Singh G.P.S. Thakur and V.K. Rajer. Free amino acid patem in stressed leaves of two contrasting resistance and susceptible cultivars of chickpea (*Cicer arietinum*). *Experimenti*, (1983) (40-41) 4.
17. Westgate M.E. and E.M. Hower and Pod development in water deficit soybeans (*Glycine max L. Merr.*). Dept. of Botany and Microbiology, Auburn University, Auburn, AI. U.S.A. (1992) 36849-5407.